

## بررسی اثر عصاره آبی الکلی برگ گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) بر یادگیری و حافظه فضایی موش سوری

مرتضی یوسفی<sup>۱</sup>، دکتر محمدرضا حجتی<sup>۲\*</sup>، احسان مشتاقی<sup>۱</sup>، راضیه رحیمیان<sup>۱</sup>، آزاده داودیان دهکردی<sup>۱</sup>

دکتر محمود رفیعیان<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>مرکز تحقیقات گیاهان دارویی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران، <sup>۲</sup>گروه فیزیولوژی - دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۰/۲/۱۱ اصلاح نهایی: ۹۰/۳/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۰/۴/۲۵

### چکیده:

**زمینه و هدف:** بادرنجبویه (*Melissa officinalis*)، دارای اثرات گوناگون درمانی از جمله اثرات تسکینی، آنتی اکسیدانی و ضد اسپاسم بوده و به صورت یک داروی آرام بخش و کمک دهنده ی خواب استفاده می شود. در این مطالعه اثر تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه بر یادگیری و حافظه در موش های سوری به روش ماز آبی موریس بررسی شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی تعداد ۳۲ سر موش سوری نژاد Balb/c در چهار گروه تصادفی قرار گرفتند. به گروه کنترل، سرم فیزیولوژی و به سه گروه آزمایشی دیگر دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه برای مدت هفت روز تزریق شد. با استفاده از روش ماز آبی موریس، میزان یادگیری حیوانات به مدت ۵ روز متوالی ارزیابی شد. پس از تکمیل دوره یادگیری، در روزهای ۵، ۷ و ۹ آزمایش پروب (Probe trial) برای ارزیابی حافظه کوتاه مدت و بلند مدت انجام شد. داده ها با استفاده از آزمون های آماری آنالیز واریانس یکطرفه و توکی تجزیه و تحلیل شد.

**یافته ها:** میزان یادگیری در حیوانات دریافت کننده عصاره بادرنجبویه تفاوت معنی داری با گروه دریافت کننده سالین نداشت. نتایج اولین آزمایش پروب تاثیر مثبت دوز کم عصاره بادرنجبویه (دوز ۲۵ میلی گرم در کیلوگرم) بر حافظه کوتاه مدت را نشان داد ( $P<0/05$ ). این در حالی است که موش های گروه کنترل در آزمایش پروب روز ۷ موفق به تشکیل حافظه کوتاه مدت شدند. با انجام آزمایش پروب در روز ۹ مشخص شد تزریق دوز بالای بادرنجبویه (دوز ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) از تشکیل حافظه کوتاه مدت جلوگیری می کند.

**نتیجه گیری:** نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه می تواند در دوز کم (۲۵ میلی گرم در کیلوگرم) سبب تقویت حافظه کوتاه مدت گردد ولی در دوزهای بالا احتمالاً از تشکیل حافظه کوتاه مدت جلوگیری می کند.

**واژه های کلیدی:** عصاره هیدروالکلی، بادرنجبویه، یادگیری، حافظه فضایی، ماز آبی موریس.

### مقدمه:

برای آن به اثبات رسیده است. از رایج ترین خواص درمانی بادرنجبویه می توان به خواص آرام بخشی، آنتی اکسیدانی، ضد اسپاسمی، ضد نفخ، ضد باکتری، ضد ویروسی و ضد التهابی آن اشاره کرد (۱،۲). همچنین در بررسی اثر این گیاه بر دستگاه عصبی مشخص شده است که بادرنجبویه علائم اختلالات عصبی از جمله استرس،

بادرنجبویه یا *Melissa officinalis* یکی از قدیمی ترین و رایج ترین گیاهان دارویی است که متعلق به خانواده نعنائیان (Lamiaceae) می باشد. بوی لیمو از مشخصات این گیاه است و به همین دلیل به آن Lemon balm هم گفته می شود. در مطالعات متعددی که بر روی این گیاه انجام گرفته خواص گوناگونی

اضطراب و تحریک پذیری را کاهش می دهد (۳). همچنین این گیاه از سلول های عصبی محافظت به عمل آورده و رادیکال های آزاد را از بین می برد (۴) و به صورت توام با والرین (valerian) سبب افزایش کیفیت خواب می شود (۵). عصاره های آبی و متانولی این گیاه هر دو مهارکننده آنزیم مونوآمین اکسیداز (MAO) هستند و در این کار اثر عصاره متانولی آن قوی تر می باشد، لذا پیشنهاد شده است که این گیاه دارای اثرات ضد افسردگی نیز می باشد (۴).

ترکیباتی که در گیاه بادرنبجوبه شناسایی شده اند شامل تعدادی از آلدئیدهای مونوترپنئید، فلاونوئیدها و ترکیبات پلی فنولی بخصوص رزمارینیک اسید و گلیکوزید های مونوترپن می باشد (۶،۷). در قدیم از این گیاه به عنوان تقویت کننده حواس و ذهن استفاده می شده و جوشانده یا شربت آن برای تقویت معده و کبد و نیز ازدیاد هوش و حافظه توصیه می شده است (۸).

اگرچه در گیاه نامه های دارویی قدیم اروپایی اشاره ای هم به خصوصیات بادرنبجوبه در تقویت حافظه شده است (۹)، ولی در مطالعات دیگری که توسط Pereira و همکاران او انجام شد مشخص شد رزمارینیک اسید که ترکیب اصلی گیاه بادرنبجوبه است اثری روی حافظه کوتاه مدت و بلند مدت ندارد (۱۰). همچنین طی مطالعه ای که توسط Orhan و همکاران او انجام شد مشخص شد که این گیاه اثرات آنتی اکسیدانی و آنتی کولین استرازی داشته ولی هیچ اثر ضد فراموشی (یا تقویت کننده حافظه) ندارد (۱۱). علاوه بر این، مشخص شده است که عصاره اتانولی تهیه شده از برگ بادرنبجوبه دارای خواص آنتی کولین استرازی در بافت مغز انسان است (۱۲). از آنجا که در مطالعات Perry و همکاران (۱۲) و Orhan و همکاران (۱۱) اثرات آنتی کولین استرازی این گیاه نشان داده شد و نیز در مطالعات قبلی اثر مثبت داروهای کولینرژیک بر افزایش حافظه به اثبات رسیده است (۱۳)، لذا انتظار می رود بادرنبجوبه بتواند از این طریق باعث افزایش حافظه شود. بر خلاف

مطالعه Orhan و Perry نتایج بدست آمده از مطالعه Andersen نشان داد که هیچ یک از عصاره های آبی و یا عصاره متانولی بادرنبجوبه اثر مهاری بر فعالیت آنزیم استیل کولین استراز ندارد (۱۴) و بر همین اساس انتظار می رود که در تقویت حافظه بی اثر باشد. در مطالعه ای دیگر مشابه این اثر با بررسی اثر عصاره اتانولی برگ بادرنبجوبه بدست آمد (۱۵).

با توجه به نتایج متفاوت حاصل از مطالعات فوق و با توجه به اینکه اثر عصاره آبی الکلی برگ این گیاه بر یادگیری و حافظه فضایی در موش های سوری به روش استفاده از ماز آبی موریس مورد بررسی قرار نگرفته است. لذا این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره آبی الکلی برگ گیاه بادرنبجوبه بر یادگیری و حافظه در موش های سوری به روش ماز آبی موریس انجام شد.

### روش بررسی:

این مطالعه ی تجربی-آزمایشگاهی، بر روی تعداد ۳۲ سر موش سوری نژاد Balb/c از هر دو جنس نر و ماده، در محدوده وزنی ۳۰ تا ۴۰ گرم و در محدوده سنی ۸-۶ هفته ای انجام شد. حیوانات از انستیتو پاستور خریداری و در حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد نگهداری شدند و در تمامی اوقات بجز یک ساعت قبل از آزمایشات به آب و غذا دسترسی داشتند. حیوانات بطور تصادفی در چهار گروه ۸ تایی شامل یک گروه کنترل (دریافت کننده نرمال سالین) و سه گروه آزمایشگاهی دریافت کننده دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی برگ گیاه بادرنبجوبه (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) قرار گرفتند. گروه های مورد مطالعه، نرمال سالین و یا عصاره بادرنبجوبه را به صورت تزریق داخل صفاقی و در حجم ۰/۲ میلی لیتر دریافت کردند. تمامی آزمایشات در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد انجام گرفت.

تهیه گیاه و عصاره گیری:

برگ خشک شده گیاه بادرنجبویه از یک عطاری محلی در شهرکرد خریداری و پس از تایید توسط کارشناس مربوطه در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشکده پزشکی شهرکرد مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا ۵۰ گرم از پودر گیاه را به محلول ۱ لیتری الکل ۷۵ درصد اضافه کرده و به مدت ۴۸ ساعت در محل تاریکی قراردادیم. سپس محلول بدست آمده را دو بار از کاغذ صافی عبور داده و ماده حاصله را در دستگاه روتاری (تقطیر در خلا) با دمای ۳۸ درجه سانتی گراد قرار دادیم تا الکل آن خارج شود. سپس مایع باقی مانده در ته ظرف را در انکوباتور با دمای ۳۸ درجه سانتی گراد قرار دادیم تا خشک شود (۱۶). در نهایت بعد از تراشیدن آن مقدار ۱۱/۴۵ گرم پودر گیاه بادرنجبویه بدست آمد. در مرحله بعد با استفاده از مقادیر بدست آمده، دوزهای ۵۰، ۲۵ و ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم بادرنجبویه از طریق حل کردن پودر آن در سرم فیزیولوژی تهیه شد.

آزمایش یادگیری و حافظه فضایی به روش ماز آبی موریس:

در ابتدا موش ها به مدت ۴ روز (روزی ۳ دقیقه) به محیط آزمایشگاه آورده و روی دست پژوهشگر قرار می گرفتند تا به محیط آزمایشگاه و پژوهشگر خو بگیرند. سپس به منظور تیمار اولیه، به موش ها در ساعتی معین و به مدت ۷ روز دوزهای تهیه شده از عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه و یا نرمال سالین به صورت داخل صفاقی تزریق می شد.

در مرحله بعد برای اندازه گیری یادگیری و حافظه کوتاه مدت از ماز آبی موریس (Morris water maze) استفاده شد (۱۷). ماز آبی، تانکی به قطر ۱۱۲ سانتی متر و عمق ۲۵ سانتی متر بود که در یکی از چارک های آن (چارک هدف) سکو یا پایکی فلزی (platform) به قطر ۱۱/۵ و ارتفاع ۱۷/۵ سانتی متر قرار داده می شد (۱۶). ماز آبی تا ارتفاع حدود یک سانتی متر بالاتر از سطح پاییک فلزی (سکوی پنهان) از آب با دمای  $25 \pm 1$  درجه سانتی گراد پر می شد. محل ماز و پاییک فلزی تا آخر آزمایش

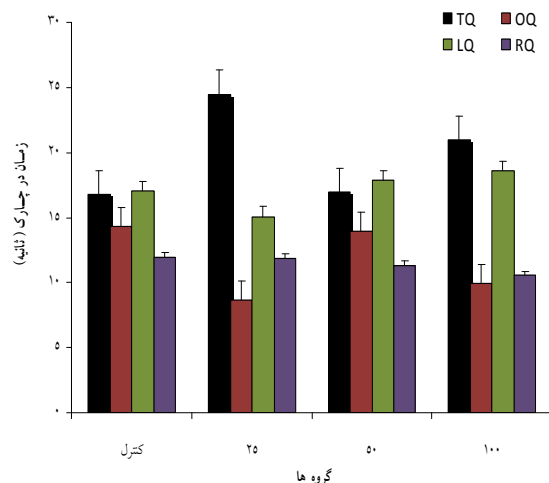
ثابت بود و تنها در روز آزمایش پروب (Probe trial) پاییک فلزی برداشته شد. جهت شناسایی بهتر محل سکوی پنهان توسط موش، اتاق آزمایش را کمی تاریک کرده و به دیوارهای آن علائمی با رنگ ها و شکل های مختلف چسبانده شد. برای بررسی اثر بادرنجبویه بر یادگیری، نیم ساعت پس از تزریق عصاره یا سالین جلسات تمرینی انجام شد که طی آن هر موش به مدت ۳۰ ثانیه روی سکو قرار گرفت. سپس موش بطور تصادفی از یکی از محل های چهارگانه در اطراف تانک به داخل آب رها شد و به حیوان ۶۰ ثانیه فرصت داده شد تا سکوی پنهان را بیابد. اگر حیوان کمتر از ۶۰ ثانیه موفق به پیدا کردن پاییک می شد زمان مربوطه با استفاده از دوربین مدار بسته و کامپیوتر و با کمک نرم افزار Ethovision XT ثبت و محاسبه می گردید و سپس به حیوان اجازه داده می شد تا برای مدت ۳۰ ثانیه روی پاییک بماند. در صورتی که موش نمی توانست در زمان ۶۰ ثانیه پاییک را پیدا کند، توسط محقق به سوی پاییک هدایت می شد تا به سکو رسیده و برای مدت ۳۰ ثانیه روی پاییک قرار گیرد. این کار برای هر موش هر روز ۲ بار پشت سر هم و به مدت ۵ روز متوالی انجام می شد. نیم ساعت بعد از اتمام آخرین جلسه یادگیری (روز پنجم) و نیز در روزهای هفتم و نهم آزمایش پروب (Probe trial) انجام می گرفت.

آزمایش پروب به منظور اجرای تست حافظه انجام گرفت و نحوه انجام آن به این ترتیب بود که ابتدا هر موش به مدت ۳۰ ثانیه روی پاییک قرار می گرفت و بعد از آن پاییک از داخل تانک برداشته و حیوان از نقطه مقابل چارک هدف در تانک رها می شد. به هر موش فقط ۶۰ ثانیه فرصت داده می شد که در آب شنا کند. در پایان، مدت زمان شنا در هر یک از چارک های چهارگانه ثبت گردید و سپس میانگین زمان های بدست آمده از گروه های مختلف با هم مقایسه شد (۱۸، ۱۹). در صورتی که میانگین مدت زمان شنا کردن در چارک هدف بطور معنی داری بیش از مدت زمان شنا کردن در

همچنین تفاوت معنی داری بین گروه های مورد مطالعه از نظر سن، وزن، میانگین سرعت شنا کردن و نیز میزان مسافت طی شده تا سکوی هدف مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ).

برای ارزیابی اثر عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه روی حافظه کوتاه مدت، سه آزمایش پروب در روزهای ۵، ۷ و ۹ انجام شد. نتایج اولین آزمایش پروب در روز پنجم تاثیر مثبت دوز ۲۵ میلی گرم عصاره آبی الکلی بادرنجبویه بر حافظه کوتاه مدت را نشان داد، بطوری که موش های این گروه توانستند زمان بیشتری را در مقایسه با گروه کنترل و نیز سایر گروه های دریافت کننده بادرنجبویه در چارک هدف بگذرانند ( $P < 0.05$ ) (نمودار شماره ۲).

نتایج آزمون ANOVA در دومین آزمایش پروب (روز هفتم) نشان داد که موش های گروه کنترل با دو روز تاخیر موفق به تشکیل حافظه کوتاه مدت برای محل چارک هدف شده اند ( $P < 0.05$ ) (نمودار شماره ۳). با



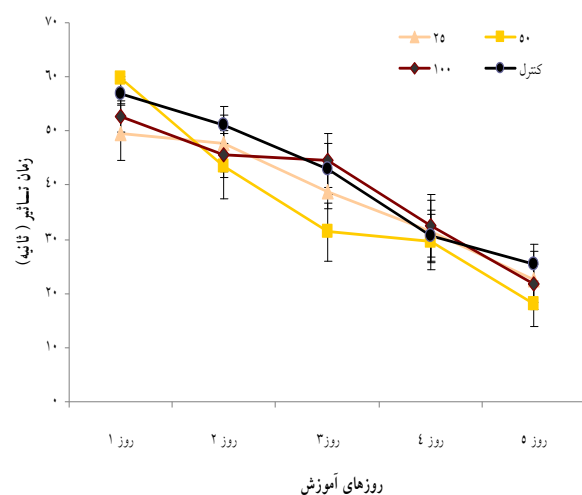
**نمودار شماره ۲:** اثر دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه (mg/kg) بر حافظه کوتاه مدت در اولین آزمایش پروب (روز پنجم) در مدل ماز آبی موریس. TQ: چارک هدف، OQ: چارک مقابل چارک هدف، LQ: چارک سمت چپ چارک هدف و RQ: چارک سمت راست چارک هدف.  $P < 0.05$  در گروه ۲۵ میلی گرم بین چارک هدف و سایر چارک ها.

سایر چارک ها می شد به این معنی بود که موش محل اصلی پایک را به حافظه سپرده است و در غیر این صورت حافظه ای شکل نگرفته است. آزمایش پروب ۳ بار به صورت ۱ روز در میان اجرا شد و در فواصل بین آن، تست یادگیری ادامه می یافت. به منظور بررسی حافظه بلند مدت، آزمایش پروب دو هفته پس از انجام تست حافظه کوتاه مدت مجدداً تکرار شد.

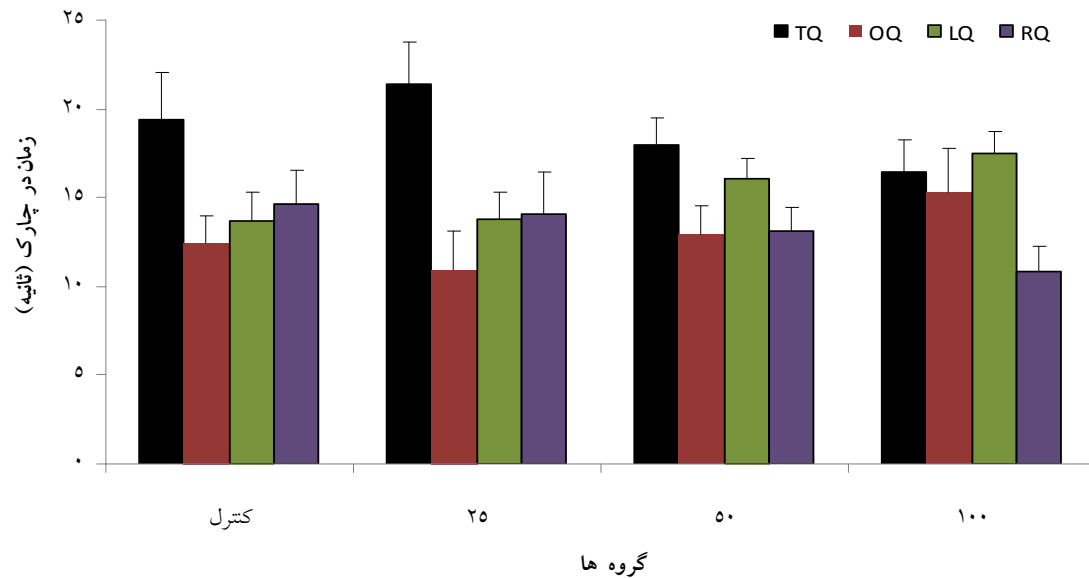
اطلاعات بدست آمده از آزمایشات توسط نرم افزار Ethovision XT (Version 5) ثبت گردید و سپس داده ها با آزمون های آماری آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون توکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

## یافته ها:

نتایج آزمایشات انجام شده در ماز آبی موریس در طی ۵ روز متوالی از مرحله یادگیری نشان داد که بین موش های دریافت کننده سالیس و موش های دریافت کننده عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه تفاوت معنی داری از نظر میزان یادگیری وجود ندارد ( $P > 0.05$ ) (نمودار شماره ۱).

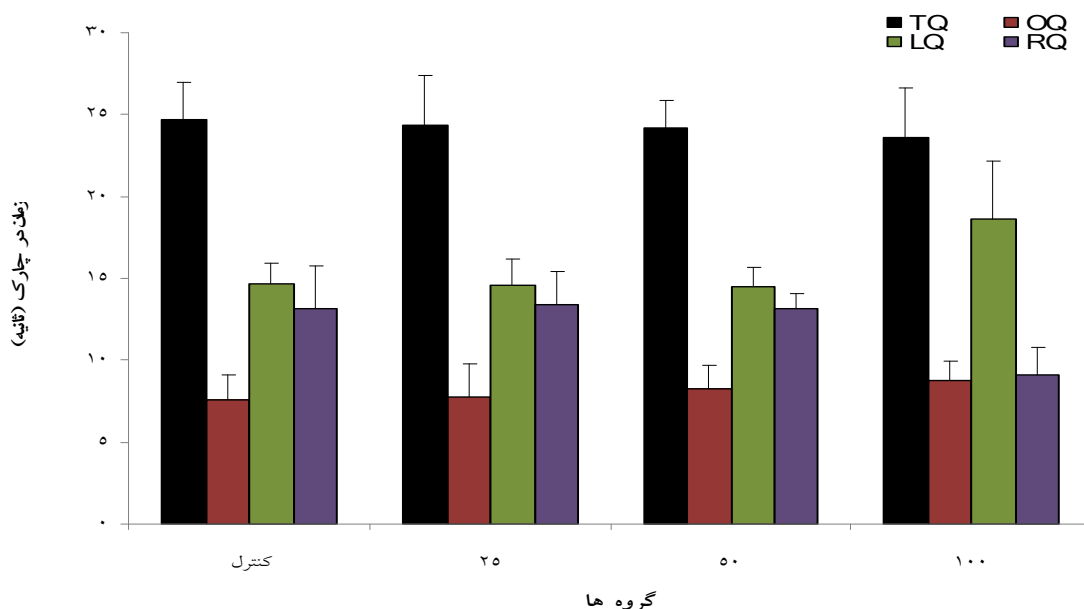


**نمودار شماره ۱:** اثر دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه (mg/kg) بر روی یادگیری فضایی در مدل ماز آبی موریس.  $P > 0.05$  بین موش های گروه کنترل و بادرنجبویه.



**نمودار شماره ۳:** اثر دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی بادرنبجویه (mg/kg) بر حافظه کوتاه مدت در دومین آزمایش پروب (روز هفتم) در مدل ماز آبی موریس. TQ: چارک هدف، OQ: چارک مقابل چارک هدف، LQ: چارک سمت چپ چارک هدف و RQ: چارک سمت راست چارک هدف.  $P < 0.05$  در گروه کنترل و گروه دریافت کننده دوز ۲۵ میلی گرم بین چارک هدف و سایر چارک ها.

انجام آزمایش پروب در روز ۹ مشخص شد حیوانات گروه کنترل و حیوانات دریافت کننده دوزهای ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بادرنبجویه زمان بیشتری را در چارک هدف نسبت به سایر چارک ها شنا کرده اند ( $P < 0.05$ ) ولی موش های دریافت کننده دوز ۱۰۰ میلی گرم نتوانستند محل چارک هدف را به حافظه بسپارند



**نمودار شماره ۴:** اثر دوزهای مختلف عصاره هیدروالکلی بادرنبجویه (mg/kg) بر حافظه کوتاه مدت در سومین آزمایش پروب (روز نهم) در مدل ماز آبی موریس. TQ: چارک هدف، OQ: چارک مقابل چارک هدف، LQ: چارک سمت چپ چارک هدف و RQ: چارک سمت راست چارک هدف.  $P < 0.05$  در گروه کنترل و گروه های دوزهای ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بین چارک هدف و سایر چارک ها.

( $P < 0.05$ ) (نمودار شماره ۴). آزمایش تست حافظه بلند مدت نیز تفاوت معنی داری را بین گروه کنترل و سایر گروه ها نشان نداد ( $P > 0.05$ ). مشاهدات در تمامی گروه های مورد مطالعه دارای توزیع نرمال بود.

## بحث:

بر پایه نتایج حاصل از پژوهش حاضر، تزریق داخل صفاقی عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه تهیه شده از برگهای این گیاه در دوزهای مختلف ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم به موش های سوری، اثر قابل توجهی بر میزان یادگیری حیوانات مورد مطالعه در ماز آبی موريس ایجاد نکرد. به عبارت دیگر، تمامی حیوانات پس از اتمام دوره یادگیری، توانستند در زمان کمتری نسبت به روز اول، سکوی هدف را پیدا کنند و تفاوتی بین گروه ها از نظر شناسایی محل قرار گرفتن سکوی هدف مشاهده نشد. در بررسی به عمل آمده از متون مختلف نیز مطالعه ای که افزایش یا کاهش میزان یادگیری را بدنبال تزریق داخل صفاقی عصاره آبی الکلی بادرنجبویه گزارش کرده باشند یافت نشد.

مطالعات چندانی در باره اثر مستقیم عصاره هیدروالکلی برگ گیاه بادرنجبویه بر حافظه کوتاه مدت و بلند مدت در موش سوری وجود ندارد. به هر حال، نتایج بدست آمده از تحقیق Pereira و همکاران نشان داده بود که ترکیب اصلی گیاه بادرنجبویه یعنی رزمارینیک اسید هیچگونه اثر تقویت کننده یا مهار کننده روی حافظه کوتاه مدت و بلند مدت ندارد (۱۰). بر پایه این یافته، انتظار می رود بادرنجبویه تاثیری بر میزان حافظه نداشته باشد. نتایج حاصل از تحقیق ما خلاف این تصور را نشان داد، بطوری که ما نشان دادیم عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه می تواند در دوز کم (۲۵ میلی گرم در کیلوگرم) حافظه کوتاه مدت را در مقایسه با گروه کنترل بطور معنی داری افزایش دهد. از آنجا که ترکیبات متنوعی از جمله آلدئیدها، فلاونوئیدها و ترکیبات پلی فنولی بخصوص رزمارینیک اسید و

گلیکوزید های مونوترپن در بادرنجبویه شناسایی شده است (۷،۶)، به نظر می رسد اثر مثبت دوز پایین این گیاه در تقویت حافظه به ترکیبی غیر از رزمارینیک اسید، مثلاً به ترپن ها مرتبط باشد. در مطالعه بر روی گلبول های قرمز انسان مشخص شده است که ترپن ها دارای خواص آنتی کولین استرازی هستند (۲۰). همچنین در مطالعه Perry در بافت مغز انسان (۱۲) و در مطالعه Orhan در موش سوری (۱۱) مشخص شده است که برگ بادرنجبویه هم این خاصیت را دارا می باشد. از آنجا که ترپن ها در گیاه بادرنجبویه وجود دارند این احتمال وجود دارد که اثر مثبت بادرنجبویه در تقویت حافظه مربوط به این ترکیب باشد. به این ترتیب، بادرنجبویه می تواند از طریق تاثیر بر سیستم کولینرژیک بر حافظه موثر بوده باشد. این احتمال وجود دارد که بادرنجبویه از طریق ترکیبات ترپنوئیدی خود باعث مهار آنزیم استیل کولین استراز شده و در نتیجه باعث افزایش میزان استیل کولین در مغز شود. مطالعات قابل توجهی وجود دارد که اثر مثبت سیستم کولینرژیک (افزایش استیل کولین در مغز) بر افزایش حافظه را به اثبات می رساند (۱۳، ۲۴-۲۱). برای مثال مشخص شده است تحریک گیرنده های موسکاربینی سیستم کولینرژیک بر تثبیت حافظه موثر است (۲۵). علاوه بر این، داروهایی که گیرنده های نیکوتینی را فعال می کنند تشکیل حافظه های جدید را افزایش می دهند (۲۱، ۲۶). از طرفی مشخص شده است که بادرنجبویه می تواند گیرنده های نیکوتینی را فعال کند (۲۷). بنابراین، تحریک گیرنده های نیکوتینی توسط عصاره بادرنجبویه می تواند مکانیسمی برای تقویت حافظه کوتاه مدت مشاهده شده در این پژوهش باشد. بهر حال، در تحقیق حاضر تاثیر مثبت عصاره هیدروالکلی بادرنجبویه بر حافظه کوتاه مدت تنها در دوز کم آن مشاهده شد و دوز بالای آن (۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) تاثیری بر تشکیل حافظه کوتاه مدت نداشت. بنابراین، این احتمال وجود دارد که مکانیسم اثر بادرنجبویه در دوزهای کم

مانع از تشکیل حافظه شود. لذا، مصرف کم تا متوسط بادرنبویه برای تقویت حافظه توصیه می گردد ولی پیشنهاد می شود از زیاده روی در مصرف آن خودداری شود.

### تشکر و قدردانی:

این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی کمیته تحقیقات دانشجویی و با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی این دانشگاه انجام شد که بدینوسیله نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از آنان اعلام می دارند.

و زیاد آن متفاوت باشد. تاثیرات متفاوت وابسته به دوز بادرنبویه در مطالعات قبلی نیز مورد تاکید قرار گرفته است (۱۵). به نظر می رسد بادرنبویه در دوز کم با اثر بر گیرنده های نیکوتینی و فعال کردن سیستم کولینرژیک می تواند سبب افزایش حافظه کوتاه مدت شود. پیشنهاد می شود در تحقیقات بعدی تاثیر بادرنبویه از طریق تداخل با سیستم کولینرژیک مورد بررسی بیشتر قرار گیرد.

### نتیجه گیری:

نتایج این تحقیق نشان داد که عصاره هیدروالکلی بادرنبویه در دوز کم سبب افزایش حافظه کوتاه مدت می شود و به نظر می رسد دوزهای بالای بادرنبویه

### منابع:

- 1.Koch-Heitzmann I, Schultze W. *Melissa officinalis* L. an old medicinal plant with new therapeutic action. Dtsc Apothek Ztg. 1984; 124: 2137-45.
- 2.Lamaison JL, Petitjean-Freytet C, Duband F, Carnat AP. Rosemarinic acid content and antioxidant activity of French lamiaceae. Fitoterapia. 1991; 62: 166-71.
- 3.Bisset NG, Wichtl M. Herbal drugs and phytopharmaceuticals. 2<sup>th</sup> ed. Stuttgart: Medpharm GmbH Scientific Publishers; 2001.
- 4.Lopez V, Martin S, Gomez-Serranillos MP, Carretero ME, Jager AK, Calvo MI. Neuroprotective and neurological properties of *Melissa officinalis*. Neurochem Res. 2009; 34(11): 1955-61.
- 5.Drebing H, Riemann D, Low H, Schredl M, Reh C, Laux P, et al. Insomnia: are valerian/balm combinations of equal value to enzodiazepine? Therapiewoche. 1992; 42: 726-36.
- 6.Carnat AP, Carnat A, Fraisse D, Lamaison JL. The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis*) tea. Pharm Acta Helvetiae. 1998; 72: 301-5.
- 7.Hohmann J, Zupko I, Redei D, Csanyi M, Falkay G, Mathe I, et al. Protective effects of the aerial parts of *Salvia officinalis*, *Melissa officinalis* and *lavandula angustifolia* and their constituents against enzyme-dependent and enzyme-independent lipid peroxidation. Planta Med. 1999; 65(6): 576-8.
- 8.Varposhti MH. [Plant medicine. Esfahan: Charbagh Pub. 2007.]Persian
- 9.Blumenthal M, Goldberg A, Brinckmann J. Herbal medicine expanded commission E monographs. Newton MA: Integrative Medicine Communications; 2000.
10. Pereira P, Tysca D, Oliveira P, da Silva Brum LF, Picada JN, Ardenghi P. Neurobehavioral and genotoxic aspects of rosmarinic acid. Pharmacol Res. 2005 Sep; 52(3): 199-203.
11. Orhan I, Aslan M. Appraisal of scopolamine-induced antiamnesic effect in mice and in vitro antiacetylcholinesterase and antioxidant activities of some traditionally used lamiaceae plants. J Ethnopharmacol. 2009 Mar; 122(2): 327-32.

12. Perry N, Court G, Bidet N, Court J, Perry E. European Herbs with cholinergic activities: potential in dementia therapy. *J Geriatr Psychiatry*. 1996; 11: 1063-9.
13. Beeri R, Andres C, Lev-Lehman E, Timberg R, Huberman T, Shani M, et al. Transgenic expression of human acetylcholinesterase induces progressive cognitive deterioration in mice. *Curr Biol*. 1995 Sep; 5(9): 1063-71.
14. Adersen A, Gauguin B, Gudiksen L, Jager AK. Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity. *J Ethnopharmacol*. 2006; 104(3): 418-22.
15. Kennedy DO, Wake G, Savelev S, Tildesley NTJ, Perry EK, Wesnes KA, et. al. Modulation of mood and cognitive performance following acute administration of single doses of *Melissa officinalis* (Lemon Balm) with human CNS nicotinic and muscarinic receptor-binding properties. *Neuropsychopharmacol*. 2003; 28(10): 1871-81.
16. Vasudevan M, Parle M. Memory enhancing activity of Anwala churna (*Embllica officinalis* Gaertn.): an Ayurvedic preparation. *Physiol Behav*. 2007 May; 91(1): 46-54.
17. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods*. 1984; 11(1): 47-60.
18. Rao SB, Chetana M, Uma Devi P. Centella asiatica treatment during postnatal period enhances learning and memory in mice. *Physiol Behav*. 2005 Nov; 86(4): 449-57.
19. Zhang D, Liu G, Shi J, Zhang J. Coeloglossum viride var. bracteatum extract attenuates D-galactose and NaNO<sub>2</sub> induced memory impairment in mice. *J Ethnopharmacol*. 2006 Mar; 104(1-2): 250-6.
20. Perry NSL, Houghton PJ, Theobald A, Jenner P, Perry EK. In-vitro inhibition of human erythrocyte acetylcholinesterase by *Salvia lavandulaefolia* essential oil and constituent terpenes. *J Pharm Pharmacol*. 2000; 52(7): 895-902.
21. Buccafusco JJ, Letchworth SR, Bencherif M, Lippiello PM. Long-lasting cognitive improvement with nicotinic receptor agonists: mechanisms of pharmacokinetic-pharmacodynamic discordance. *Trends Pharmacol Sci*. 2005; 26(7): 352-60.
22. Hasselmo ME. The role of acetylcholine in learning and memory. *Curr Opin Neurobiol*. 2006; 16(6): 710-15.
23. Eidi M, Zarrindast MR, Eidi A, Oryan S, Parivar K. Effects of histamine and cholinergic systems on memory retention of passive avoidance learning in rats. *Eur J Pharmacol*. 2003 Mar; 465(1-2): 91-6.
24. Eidi M, Eidi A, Bahar M. Effects of *Salvia officinalis* L. (sage) leaves on memory retention and its interaction with the cholinergic system in rats. *Nutrition*. 2006 Mar; 22(3): 321-6.
25. Deiana S, Platt B, Riedel G. The cholinergic system and spatial learning. *Behav Brain Res*. 2011 Aug; 221(2): 389-411.
26. Power AE, Vazdarjanova A, McGaugh JL. Muscarinic cholinergic influences in memory consolidation. *Neurobiol Learn Mem*. 2003 Nov; 80(3): 178-93.
27. Levin ED, McClernon FJ, Rezvani AH. Nicotinic effects on cognitive function: behavioral characterization, pharmacological specification, and anatomic localization. *Psychopharmacology*. (Berl) 2006; 184(3-4): 523-39.



## **The effect of hydro-alcoholic extract of *Melissa officinalis* on learning and spatial memory in Balb/c mice**

Yosofi M (PhD student)<sup>1</sup>, Hojjati MR (PhD)\*<sup>2</sup>, Moshtaghi E (MD)<sup>1</sup>, Rahimiyan R (MD)<sup>1</sup>, Dawodiyan Dehkordi A (MD)<sup>1</sup>, Rafieian M (PhD)<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran,

<sup>2</sup>Physiology Dept., Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.

Received: 1/May/2011

Revised: 7/Jun/2011

Accepted: 16/July/2011

**Background and aims:** *Melissa officinalis* is one of the most consumed plants in the world which has many different therapeutic effects such as: sedative, antioxidative and antispasmodic effects. Nowadays, it is mostly used for its calmness effect and for improvement of quality of sleep. In this study we tried to evaluate the eventual effect of hydro-alcoholic extract of *Melissa officinalis* on learning and spatial memory in mice using Morris watermaze task.

**Methods:** In this experimental study, 32 Balb/c mice were randomly divided into one control and three experimental groups. Control group received normal saline and experimental groups received hydro-alcoholic extracts of *Melissa officinalis* (25, 50 and 100 mg/kg, i.p.) for 7 days, and then spatial learning was evaluated for 5 consecutive days. For evaluating short-term and long-term memory, probe-trial experiments were performed in the day 5, 7 and 9. Data were analyzed using ANOVA and Tukey tests.

**Results:** No significant difference was found between control group and experimental groups in learning ( $P>0.05$ ). The first probe-trial experiment showed a positive effect of lower dose of *Melissa officinalis* (25 mg/kg) on short-term memory ( $P<0.05$ ); while control animals were succeeded in making short-term memory in the second probe trial experiment. Performing the third probe trial experiment in the day 9, we demonstrated that higher dose of *Melissa officinalis* (100 mg/kg) prevents from making short-term memory.

**Conclusion:** Hydro-alcoholic extracts of *Melissa officinalis* have no significant effect on learning in watermaze task. *Melissa officinalis* increases short-term memory in lower dose; however, it may have prevention effect on making short-term memory in higher dose.

**Keywords:** Learning, Spatial memory, Hydro-alcoholic extract, *Melissa officinalis*, Morris, Watermaze.

**Cite this article as:** Yosofi M, Hojjati MR, Moshtaghi E, Rahimiyan R, Dawodiyan Dehkordi A, Rafieian M. [The effect of hydro-alcoholic extract of *Melissa Officinalis* on spatial learning and memory in balb/c mice. J Sharekord Univ Med Sci. 2011 Oct, Nov; 13(4): 51-59.]Persian

---

**\*Corresponding author:**

Physiology Dept, Shahrekord University of Medical Sciences, Rahmatieh, Shahrekord, Iran. Tel: 0098-3813335654, E-mail:hojjati85@yahoo.com